

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 64-023155

(43)Date of publication of application : 25.01.1989

(51)Int.Cl. G01N 27/46
G01N 27/38
// G01N 27/30

(21)Application number : 62-179814

(71)Applicant : DAIKIN IND LTD

(22)Date of filing : 17.07.1987

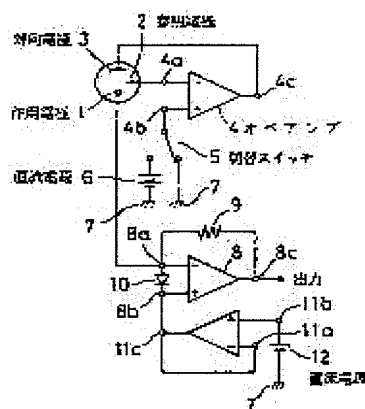
(72)Inventor : NAGATA YASUHIRO

(54) ELECTRODE REFRESHING DEVICE FOR BIOSENSOR

(57)Abstract:

PURPOSE: To take a high-accurate measurement in a short time after the power source is turned on by applying a constant reverse bias to between a working electrode and a reference electrode and refreshing the working electrode.

CONSTITUTION: A changeover switch 5 is switched to connect the non-inverted input terminal 4b of an operational amplifier 4 to a DC power source 6 for refreshing and the constant voltage for refreshing is applied to between the working electrode 1 and reference electrode 2. In this state, the DC power source 6 and a DC power source 12 for measurement are connected in series and the electrode 1 is applied with a voltage equal to the difference between the terminal voltages across the power sources 6 and 12 as the reverse bias based upon the electrode 2. Then the electrode 2 has no variation in surface potential, so it is not affected by variation in the potential of the electrode 3 and the surface potential of the electrode 1 is held constant. A nearly constant refreshing current can, therefore, be supplied to the electrode 1 and a power feeding disturbing material is removed effectively to restore the activity of the electrode 1.



⑬ 日本国特許庁(JP)

⑭ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

昭64-23155

⑮ Int.Cl.⁴ 識別記号 庁内整理番号 ⑯ 公開 昭和64年(1989)1月25日
G 01 N 27/46 M-7363-2G
27/38 Z-7363-2G
// G 01 N 27/30 E-7363-2G 審査請求 未請求 発明の数 1 (全6頁)

⑰ 発明の名称 バイオセンサの電極リフレッシュ装置

⑱ 特 願 昭62-179814

⑲ 出 願 昭62(1987)7月17日

⑳ 発 明 者 永 田 保 広 滋賀県草津市岡本町字大谷1000番地の2 ダイキン工業株式会社滋賀製作所内

㉑ 出 願 人 ダイキン工業株式会社 大阪府大阪市北区中崎西2丁目4番12号 梅田センタービル

㉒ 代 理 人 弁理士 津川 友士

明 細 書

1. 発明の名称

バイオセンサの電極リフレッシュ装置

2. 特許請求の範囲

1. 生理活性物質が固定された作用電極と参照電極との間に所定の順バイアスを供給した状態で、作用電極と対向電極との間に生成される電気的信号に基いて対象物質の測定を行なうバイオセンサにおいて、作用電極と参照電極との間にリフレッシュ用の定電圧を供給するリフレッシュ用定電圧供給手段と、測定用の定電圧を供給する測定用定電圧供給手段と、測定動作遂行時に、上記リフレッシュ用定電圧供給手段によるリフレッシュ用の定電圧供給状態と上記測定用定電圧供給手段による測定用の定電圧供給状態とをこの順に選択する選択手段とを具備することを特徴とするバイオセンサの電極リフレッシュ装置。

- 1 -

2. 選択手段が、比較的短時間のリフレッシュ用定電圧供給状態を選択した後、測定用定電圧供給状態を選択するものである上記特許請求の範囲第1項記載のバイオセンサの電極リフレッシュ装置。

3. リフレッシュ用定電圧供給手段、測定用定電圧供給手段、および選択手段が、出力端子を対向電極に接続され、反転入力端子を参照電極に接続されたオペアンプの非反転入力端子を、スイッチを介してリフレッシュ用直流電源の出力端子、およびアース端子と選択的に接続してなるものである上記特許請求の範囲第1項、または第2項に記載のバイオセンサの電極リフレッシュ装置。

4. 参照電極が、Agからなるものである上記特許請求の範囲第1項から第3項の何れかに記載のバイオセンサの電極リフレッシュ装置。

3. 発明の詳細な説明

- 2 -

<産業上の利用分野>

この発明はバイオセンサの電極リフレッシュ装置に関し、さらに詳細に言えば、測定開始前に電極に対して測定時と異なる極性のバイアスを与えるための電極リフレッシュ装置に関する。

<従来の技術、および発明が解決しようとする問題点>

従来から、非常に複雑な有機化合物等を高感度、かつ高選択的に検知することができるという特質に着目して、種々のバイオセンサの研究が行なわれている。

このようなバイオセンサの代表的なものとして、電極に生理活性物質を固定しておき、所定の順バイアスを与えた状態で電極から取出される電気信号に基づいて測定対象物質の存在の有無、存在量等を検知するもの、例えば、Ptで作用電極、および対向電極を形成し、酵素膜に固定された酵素と対象物質との反応により生成される H_2O_2 を H_2O_2 透過膜を通して電極表面に導き、透過した H_2O_2 の量に対応する電気信号を取出して測

- 3 -

る。

しかし、上記の電極リフレッシュ装置においては、作用電極と対向電極との間にリフレッシュ用の定電圧を印加しているのであるから、流れる電流によって対向電極における電圧降下（以下、過電圧と称する）が変化し、この結果、作用電極における印加電圧が変化するので、常に一定のリフレッシュ効果、即ち、作用電極の活性復元が得られるという保証がなく、リフレッシュ効果が異なれば、リフレッシュ動作終了状態における作用電極の活性状態が異なることになるのであるから、取出される電気信号のレベルが変化してしまうことになるという問題がある。

また、リフレッシュ動作遂行時においては、測定動作時と比べて10倍程度以上の電流が流れるのであるから、対向電極の面積を大きくすることが必要になり、全体として大型化するのみならずコストアップを招いてしまうという問題もある。

第4図は作用電極、および対向電極の他に参照電極を設けたバイオセンサにおけるバイアス供給

- 5 -

対象物質の存在の有無、存在量等を検知するものが提案されている。具体的には、対向電極を基準として作用電極に0.6Vの順バイアス電圧を印加している。

また、このようなバイオセンサにおいては、電極に順バイアスを与えた状態での対象物質測定動作を継続することにより、作用電極表面に酸化膜等の通電妨害膜が形成され、作用電極の活性が低下するので、ある程度の回数の測定動作を行なった後、測定動作を行なわない期間に逆バイアスを与えることにより（上記の具体例に対応させれば、対向電極を基準として、作用電極に-0.6V程度の逆バイアス電圧を印加することにより）、通電妨害膜を除去し、作用電極の活性を復元させ、取出される電気信号のレベルを再び元のレベルにまで復元させることが提案されている（特開昭60-155959号公報参照）。

そして、このように非測定時に所定の逆バイアスを与えることにより、低下した測定感度を回復させ、再び高感度の測定動作を行なうことができ

- 4 -

装置を示す電気回路図であり、非反転入力端子とアースとの間に測定用の直流電源(21)が接続されているとともに、反転入力端子と出力端子との間に電流-電圧変換用の抵抗(22)が接続されたオペアンプ(23)の反転入力端子を作用電極(24)と接続している。そして、非反転入力端子をアースに接続したオペアンプ(25)の反転入力端子を参照電極(26)に接続しているとともに、出力端子を対向電極(27)と接続している。

このような構成を採用すれば、対向電極(27)を余り大きくしなくても、作用電極(24)と参照電極(26)との電位を一定に保持し続けることにより、対向電極(27)における過電圧の影響を排除して正確な測定結果を得ることができる。

そして、このような構成を採用した場合においては、第5図に示すように、電源投入後かなりの時間が経過するまでは、出力信号レベルが安定しないのであるから、通常は、出力信号レベルが安定化するのに十分な時間（最長の場合には、1時間程度の時間）が経過した後に測定を開始し、し

- 6 -

かも、一旦電源を投入した後は常時電源印加状態を継続することにより、2度目以後の測定開始までの所要時間を短くするようにしている。

しかし、安定化した出力信号レベルは、電源投入初期における出力信号レベルと比較してかなり低くなっているのであるから、分解能が低くなってしまうという問題があるのみならず、停電、或は電池切れが発生した場合には、再び電源を投入してから出力信号レベルが安定化するまでに長時間がかかることになってしまうという問題がある。

<発明の目的>

この発明は上記の問題点を鑑みてなされたものであり、比較電極を設けることにより対向電極の小形化を達成することができ、しかも、電源投入後、速かに測定動作を開始することができるとともに、測定分解能を高めることができるバイオセンサの電極リフレッシュ装置を提供することを目的としている。

<問題点を解決するための手段>

— 7 —

さらに、上記参照電極としては、Agからなるものであることが好ましい。

<作用>

以上の構成の電極リフレッシュ装置であれば、実際に測定動作を開始する前に、選択手段により、リフレッシュ用定電圧供給手段によるリフレッシュ用の定電圧供給状態を選択するので、作用電極と参照電極との間にリフレッシュ用の定電圧を供給し、作用電極のリフレッシュ、即ち、通電妨害物質の除去を行なう。そして、作用電極のリフレッシュが行なわれた後に、選択手段により、測定用定電圧供給手段による測定用の定電圧供給状態を選択するので、作用電極と参照電極との間に測定用の定電圧を供給し、順バイアス状態とする。したがって、この状態において、生理活性物質と対象物質との反応の結果生成され、或は消失された物質の量に対応する電気信号が作用電極と対向電極との間に生成され、この生成信号に基づいて測定対象物質の濃度を検出することができる。

さらに詳細に説明すると、上記リフレッシュ動

— 9 —

上記の目的を達成するための、この発明の電極リフレッシュ装置は、作用電極と参照電極との間にリフレッシュ用の定電圧を供給するリフレッシュ用定電圧供給手段と、測定用の定電圧を供給する測定用定電圧供給手段と、測定動作遂行時に、上記リフレッシュ用定電圧供給手段によるリフレッシュ用の定電圧供給状態と上記測定用定電圧供給手段による測定用の定電圧供給状態とをこの順に選択する選択手段とを具備するものである。

但し、上記選択手段としては、比較的短時間のリフレッシュ用定電圧供給状態を選択した後、測定用定電圧供給状態を選択するものであることが好ましい。

また、上記リフレッシュ用定電圧供給手段、測定用定電圧供給手段、および選択手段としては、出力端子を対向電極に接続され、反転入力端子を参照電極に接続されたオペアンプの非反転入力端子を、スイッチを介してリフレッシュ用直流電源の出力端子、およびアース端子と選択的に接続した構成であることが好ましい。

— 8 —

作は、作用電極の表面に形成された通電妨害物質を除去する動作であり、本件発明者が通電妨害物質除去動作について研究を行なった結果、通電妨害物質除去は、通電電流に基いて行なわれていることを見出した。したがって、単に、作用電極と対向電極との間にリフレッシュのための定電圧を印加し続けた場合にも、作用電極の表面近傍における電圧降下と対向電極の表面近傍における電圧降下との和を一定に保持し続けているだけであり、リフレッシュ効果を発揮させるために必要な作用電極の表面近傍における電圧降下を一定に保持し続けていることにはならないことになる。この結果、リフレッシュ効果を一定に保持することができず、リフレッシュ後における作用電極の活性がばらついてしまうのであるから、その後における測定精度を余り高めることができなくなってしまう。しかし、この発明においては、作用電極と参照電極との間における印加電圧を一定に保持したままに作用電極のリフレッシュを行なわせるようにしているのであるから、作用電極の表面近傍に

— 10 —

おける電圧降下を一定に保持し続けることにより、通電妨害物質を除去するための電流値をほぼ一定に保持し続け、短時間に効果的なリフレッシュを行なわせることができる。

そして、作用電極のリフレッシュが行なわれた後は、選択手段により、測定用定電圧供給手段による測定用の定電圧供給状態を選択するので、作用電極と参照電極との間に測定用の定電圧を供給し、順バイアス状態とすることができる。この状態においては、作用電極の活性が十分に高められているのであるから、出力信号レベルが高い状態になっており、測定分解能が高くなっている。

そして、上記選択手段が、比較的短時間のリフレッシュ用定電圧供給状態を選択した後、測定用定電圧供給状態を選択するものである場合には、比較的短時間のリフレッシュ動作を行なわせるだけで、作用電極を十分に活性化することができ、実際の測定動作を行なうまでの所要時間を大巾に短縮することができる。

また、上記リフレッシュ用定電圧供給手段、測

— 1 1 —

用電極(1)と、A gからなる参照電極(2)、および対向電極(3)を有する、いわゆる3電極式の酵素電極に対するリフレッシュを行なわせるようにしている。

上記参照電極(2)、および対向電極(3)は、それぞれオペアンプ(4)の出力端子(4c)、および反転入力端子(4a)に接続されており、上記オペアンプ(4)の非反転入力端子(4b)は、切替スイッチ(5)により選択的に、リフレッシュ用の直流電源(6)、或はアース(7)に接続されている。また、測定信号取出し用の電流-電圧変換用オペアンプ(8)の反転入力端子(8a)を上記作用電極(1)と接続しており、出力端子(8c)と反転入力端子(8a)との間に電流-電圧変換用抵抗(9)を接続しているとともに、反転入力端子(8a)と非反転入力端子(8b)との間に、アノードが反転入力端子側となるようにダイオード(10)を接続している。そして、非反転入力端子(11b)とアース(7)との間に測定用の直流電源(12)を接続し、出力端子(11c)と反転入力端子(11a)とを直接接続したバッファアンプ(11)の出力端子(11c)を上記

— 1 3 —

測定用定電圧供給手段、および選択手段が、出力端子を対向電極に接続され、反転入力端子を参照電極に接続されたオペアンプの非反転入力端子を、スイッチを介してリフレッシュ用直流電源の出力端子、およびアース端子と選択的に接続することにより構成されている場合には、かなりの構成部分を共用することができ、全体として構成を簡素化することができる。

さらに、上記参照電極が、A gからなるものである場合には、参照電極の表面電位を一定に保持することができるので、作用電極と参照電極との間に印加されるリフレッシュ用の定電圧により、作用電極の表面電位を正確に維持し続けることができ、安定したリフレッシュ効果を達成することができる。

<実施例>

以下、実施例を示す添付図面によって詳細に説明する。

第1図はこの発明の電極リフレッシュ装置の一実施例を示す電気回路図であり、P tからなる作

— 1 2 —

電流-電圧変換用オペアンプ(8)の非反転入力端子と接続している。尚、上記直流電源(6)の端子間電圧 V_r と直流電源(12)の端子間電圧 V_m とは、 $V_r \geq V_m$ となるように設定されている。

第2図は上記電極リフレッシュ装置が適用される酵素電極の一例を示す縦断面図であり、電極本体(13)の所定位置に作用電極(1)を設けているとともに、作用電極(1)の全外周を包囲するリング状の参照電極(2)、および対向電極(3)をこの順に設けている。そして、上記作用電極(1)、参照電極(2)、および対向電極(3)を設けている側の面を凸面にしているとともに、凸面に沿うように、過酸化水素選択透過膜(14)、グルコースオキシダーゼ(以下、G O Dと略称する)を固定した固定化G O D膜(15)、およびセロハンからなる拡散制限膜(16)をこの順に設けている。尚、(17)は上記作用電極(1)、参照電極(2)、および対向電極(3)とそれぞれ接続された信号取出し端子である。

上記の構成のグルコース濃度センサの動作は次のとおりである。

— 1 4 —

グルコース濃度の測定を行なう場合には、先ず、切替スイッチ(5)を切替操作することによりオペアンプ(4)の非反転入力端子(4b)とリフレッシュ用の直流電源(5)とを接続し、作用電極(1)と参照電極(2)との間にリフレッシュ用の定電圧を印加する。

この状態においては、リフレッシュ用の直流電源(6)と測定用の直流電源(12)とが直列接続されて状態になるのであるから、作用電極(1)に対しては、参照電極(2)を基準として、上記直流電源(6)(12)の端子間電圧の差に等しい電圧($V_m - V_r$)が逆バイアスとして印加されることになる。そして、参照電極(2)は表面電位の変動がないのであるから、第3図に示す対向電極(3)の電位変動の影響を受けることなく、結果的に作用電極(1)の表面電位を一定に保持することができる。

したがって、ほぼ一定のリフレッシュ電流を作用電極(1)に流すことができ、効果的に通電妨害物質を除去し、作用電極(1)の活性を復元させることができる。

その後、切替スイッチ(5)を切替操作することに

— 15 —

態に復元させられた作用電極(1)の表面に導かれ、しかも上記順バイアス電圧が印加されているので、作用電極(1)の表面において酸化反応が行なわれると同時に作用電極(1)を通して H_2O_2 の量に対応する電流が流入する。この電流は、電流-電圧変換用オペアンプ(8)の反転入力端子(8a)に供給されるのであるから、出力端子(8c)から、上記電流に比例した電圧信号に順バイアスによるオフセット電圧が重畳された電圧信号を取出すことができる。そして、この場合における電圧信号レベルは、作用電極(1)が十分な活性を有しているのであるから、電源投入後長時間放置した場合における安定レベルよりも高いレベルであり、測定分解能が高い状態になっている。

したがって、その後は、上記電流に比例する電圧信号のみを抽出し、一次微分を施して、一次微分値のピーク値を検出し、必要な処理を行なうことにより高精度のグルコース濃度検出信号を得ることができる。

また、以上の説明においては、リフレッシュ用

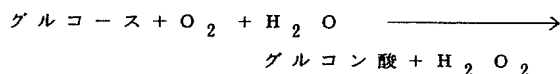
— 17 —

よりオペアンプ(4)の非反転入力端子(4b)とアース(7)とを直接接続し、作用電極(1)に対して、参照電極(2)を基準として上記直流電源(12)の端子間電圧に等しい電圧 V_m を順バイアスとして印加することにより、濃度測定可能な状態とすることができ

る。したがって、この状態において測定対象溶液を酵素電極に滴下すればよく、以下のようにしてグルコース濃度に対応する信号を出力することができる。

上記滴下された測定対象溶液は、拡散制限膜(18)によりグルコースの透過がある程度制限された状態で固定化GOD膜(15)に導かれ、

G O D



で示される酵素反応が行なわれる結果、存在するグルコース濃度に対応する量の H_2O_2 が生成される。そして、生成された H_2O_2 が、過酸化水素選択透過膜(14)を通して十分な活性を有する状

— 16 —

の電圧、および印加時間について何ら説明していないが、測定電流の約10倍程度の電流が流せるように、0～1.2V程度の電圧を印加すればよく、しかも、1～10秒程度の時間印加するだけでよく、十分なリフレッシュ効果を達成することができる。

尚、この発明は上記の実施例に限定されるものではなく、例えば対向電極(3)をPt、Au等で形成することが可能である他、電極の種類に対応して動作用の定電圧、およびリフレッシュ用の定電圧を最適値に設定することが可能である他、上記実施例においてダイオード(8)に代えてスイッチングトランジスタを使用することが可能であり、さらに、切替スイッチ(3)として互に逆の状態に制御されるスイッチング素子を使用することが可能である他、この発明の要旨を変更しない範囲内において種々の設計変更を施すことが可能である。

<発明の効果>

以上のようにこの発明は、バイオセンサの作用電極と参照電極との間に一定の逆バイアスを供給

— 18 —

することにより作用電極のリフレッシュを行なわせ、その後、作用電極と参照電極との間に一定の順バイアスを供給した状態で測定対象物質の濃度を測定するので、電源投入後、短時間で高精度の測定動作を行なわせることができるという特有の効果を奏する。

4. 図面の簡単な説明

第1図はこの発明の電極リフレッシュ装置の一実施例を示す電気回路図、

第2図は電極の一例を示す概略図、

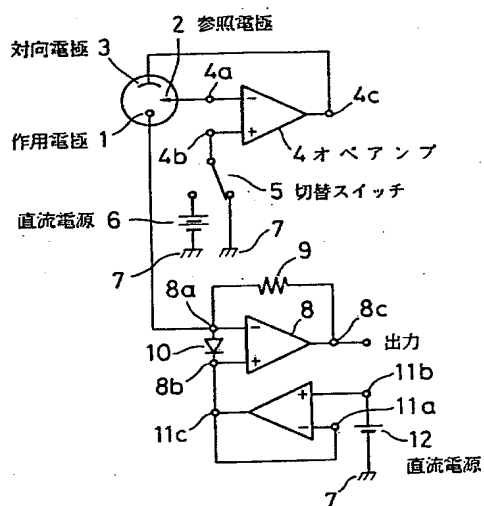
第3図は電極間の電位分布を説明する図、

第4図は従来例を示す電気回路図、

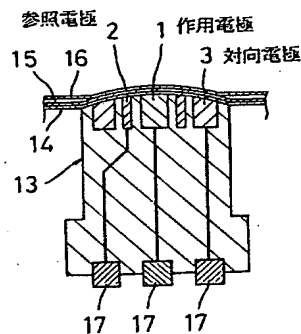
第5図は従来例における出力信号レベルの変化を示す図。

- (1) … 作用電極、(2) … 参照電極、
 (3) … 対向電極、(4) … オペアンプ、
 (5) … 切替スイッチ、(6) (12) … 直流電源

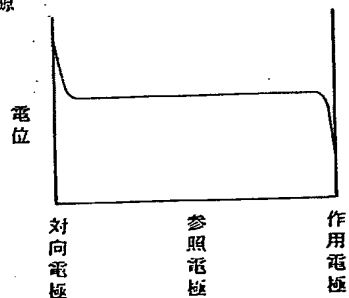
第1図



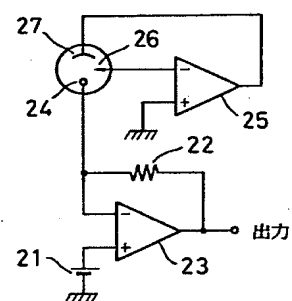
第2図



第3図



第4図



第5図

